

基とも反応し得ることが具体的に意図されている。すなわち、一つの特徴によれば、本発明の実施化に有用なリンカーは、反応性基を含有する上述したベクターからなるいずれの関連分子（このような関連分子がタンパク質であってもなくても）と反応して連結基を形成し得る基から誘導される。

好ましい連結基は、限定するものではないが、次のものから選択されるベクター反応性基から誘導される：

ベクター上で直接カルボキシ、アルデヒド、アミン (NHR) 、アルコール、スルフヒドリル基、活性化メチレン等と反応する基、例えば、活性ハロゲン含有基、例えば、クロロメチルフェニル基およびクロロアセチル [$\text{ClCH}_2\text{C}(=\text{O})\text{-}$] 基、活性化2-(脱離基で置換された)-エチルスルホニルおよびエチルカルボニル基、例えば2-クロロエチルカルボニル；ビニルスルホニル；ビニルカルボニル；エボキシ；イソシアナト；イソチオシアナト；アルデヒド；アジリジン；スクシンイミドキシカルボニル；活性化アシル基例えばカルボン酸ハロゲン化物；混合無水物等。

ベクター反応性基を含有する修飾ベクター分子と容易に反応し得る基、すなわち、例えばベクターをアルデヒドまたはカルボン酸に酸化することにより、上掲の表に記述した反応性基のような反応性基を含有するように修飾された反応性基を含有するベクターと容易に反応し得る基、この場合「連結基」はアミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、ヒドラジノ、アルキルヒドラジノ、アリールヒドラジノ、カルバジド、セミカルバジド、チオカルバジド、チオセミカルバジド、スルフヒドリル、スルフヒドリルアルキル、スルフヒドリルアリール、ヒドロキシ、カルボキシ、カルボキシアルキルおよびカルボキシアリールから選択される反応性基から誘導することができる。前記連結基のアルキル部分は1乃至約20個の炭素原子を含有している。前記連結基のアリール部分は約6乃至約20個の炭素原子を

含有している；および

反応性基を含有するベクターまたは上述した修飾ベクターに架橋剤を用いて連結し得る基。ある種の有用な架橋剤、例えばホモ二官能性およびヘテロ二官能性

ゼラチン硬化剤、ビスエポキシドおよびビスイソシアネートの残基は架橋反応の過程で連結基の一部となっている。しかし、その他の有用な架橋剤は例えば消費性の触媒として架橋を容易に行うことができ、最終のコンジュゲートには存在していない。このような架橋剤の例には、米国特許第4,421,847号に開示されているカルボジイミドおよびカルバモイロニウム架橋剤および米国特許第4,877,724号のエーテルがあげられる。これらの架橋剤の場合、反応剤の一種例えばベクターはカルボキシ基を有していなければならず、またその他の反応剤例えば長鎖スベーサーは反応性アミン、アルコールまたはスルフヒドリル基を有していなければならない。アミド結合形成に当り、架橋剤はまず選択的にカルボキシ基と反応し、次にこのようにして「活性化された」カルボキシ基とアミン基との反応の過程で分割されてこのように共有結合している二つの部分の間にアミド結合を形成する。このアプローチの利点は、同様な部分の架橋例えばベクターとベクターとの架橋が回避されることにあり、これに対して例えばホモ二官能性架橋剤の反応は非選択的であり、所望しない架橋分子が得られる。

好適で有用な連結基は、例えばPierce Chemical Company Immunotechnology Catalog-Protein Modification Section, (1995および1996)に列挙されているような様々なヘテロ二官能性架橋試薬から誘導される。このような試薬の有用であって非限定期的な例として次のものがあげられる：

Sulfo-SMCC スルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)
シクロヘキサン-1-カルボキシレート

Sulfo-SIAB スルホスクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノ
ベンゾエート

Sulfo-SMPS スルホスクシンイミジル4-(p-マレイミドフェニル)
ブチレート

2-IT 2-イミノチオラン

SATA N-スクシンイミジル S-アセチルチオアセテート

前掲の記述に加えて、連結基は全体または部分的にヌクレオチドおよびヌクレオチドの残基の相補的配列(天然および修飾両方)からなっていてもよいし、ま

たそれから誘導されてもよく、好ましくは非自己会合性オリゴヌクレオチド配列である。例えばアミンおよびスルフヒドリル基のような反応性官能基を含有する修飾ヌクレオチド部分をオリゴヌクレオチド配列に組み入れるため特に有用であって、非限定的な試薬は例えばClontech Laboratories Inc. (Palo Alto California)から商業上入手可能であり、これらの試薬にはUni-Link AminoModifier (カタログ#5190)、Biotin-ON phosphoramidite (カタログ#5191)、N-MT-C6-Aminomodifier (カタログ#5202)、AminomodifierII (カタログ#5203)、DMT-C6-3'Amine-ON (カタログ#5222)、C6-ThiolModifier (カタログ#5211) 等があげられる。一つの特徴によれば、本発明の連結基は、例えば上述のClontech試薬 (その一種または二種以上はオリゴヌクレオチド配列に組み入れられている)で入手可能であるアミンまたはスルフヒドリル基のような反応性官能基と例えば前述したベクター反応性基例えばヘテロ二官能性基とのベクター上での反応から誘導される。

二種の相補的オリゴヌクレオチド配列の一方をベクターにまた他方をレポーターに付着させることにより、得られた二本鎖ハイブリッドオリゴヌクレオチドはベクターとレポーターとの間に連結基を含むことになる。

リンカーとして役立つその他の重合体系には次のものがある：

ポリ (LまたはDまたはDL-アミノ酸) = タンパク質およびペプチド；天然または合成

ブサイドポリ(アミノ酸) = (非アミド結合により連結されたアミノ酸)

ポリ (LまたはDまたはDL-アラチド) およびコポリマー 例えばポリ (L-ラクチド/ DL-ラクチド) ポリ (グリコリド)

L-ラクチド/グリコリドコポリマー

ポリカプロラクトンおよびそのコポリマー

ポリ無水物

ポリ (オルトエステル)

ポリホスファゲン

長鎖の直鎖または分枝鎖脂質 (およびりん脂質)

糖および炭水化物

オリゴヌクレオチド（前文参照）

ならびに上述したものの混合物。

本発明で使用される連結剤は一般にはある程度の特異性をもってベクター対レポーターまたはレポーター対レポーターの連結を生じ、そして治療上有効な薬剤の一種または二種以上を付着させるのに使用することもできる。

従って、本発明によれば、製品のベクター媒介使用説明と組み合わされた所望の部位への治療的薬物デリバリーのための手段が提供される。「治療的」または「薬物」とは、ヒト生体またはヒト以外の動物での特定の疾患に対する有益な効果を有する薬剤を意味する。

本発明に従って使用される治療的化合物は分子凝集体または微粒リンカーの内部にカプセル化されているか、または小胞リンカーのカプセル化された膜に付着されているか、または組み入れられていてよい。すなわち、治療的化合物は例えば共有またはイオン結合により表面の一部に連結されていてもよいし、または、特に薬物がカプセル化材料と同じ極性または溶解性を有しているときは、生体で作用を示す前に、製品から漏出しないようにカプセル化材料中に物理的に混和されていてもよい。薬物の放出は、単なる投与後血液と温潤接触により、またはその他の内的または外的影響。

例えば酵素により触媒されるか、またはレポーターが磁性粒子である場合磁力加熱の使用により触媒される解離プロセスの結果として、開始される。

治療的物質は、例えば上述のような適当な連結剤を用いて小胞リンカーのカプセル化膜表面に共有結合によって連結されていてよい。すなわち、例えば生分解性結合またはリンカーによって薬物が結合されているリン脂質誘導体をまず製造し、次にこの誘導体を上述のように小胞膜を製造するのに使用する材料に組み入れてもよい。あるいはまた、造影剤を最初に治療薬なしで製造し、次にこれを使用前に微粒（例えば小胞）剤にカップリングまたはコーティングしてよい。すなわち、例えば、治療薬を水性媒質中のリポソームの懸濁液に加え、そして治療薬をリポソームに付着または接着させるために振とうすることができる。

治療薬は例えば血管新生または腫瘍抑制に使用することが知られている薬物またはプロドラッグであってよい。

プロドラッグ活性化酵素を含有する本発明による剤を病理学的領域に標的設定をすることによって、酵素の標的設定を造影することができ、剤が適切に標的設定されている場合および剤が非標的領域から消失した場合に可視化させることができる。このようにして、プロドラッグを個々の患者に注射するための最適時間を定めることができる。

別の代替法は、同一微粒リンカーレポーターにプロドラッグ、プロドラッグ活性化酵素およびベクターをプロドラッグが何らかの外部刺激後に初めて活性化されるような方法で組み入れることである。このような刺激は所望の標的設定が達成された後の発色團レポーターの光による刺激または超常磁性レポーターの磁力加熱である。

所謂プロドラッグも本発明による剤で使用することができる。すなわち、薬物を誘導体としてそれらの物理化学的性質を変更し、そして本発明の造影剤に適合させることができる。このような誘導体とした薬物はプロドラ

ックとみなされ、誘導体としている基が開裂して活性形態の薬物を再生するまでは通常活性を示さない。

治療薬は本発明によって血管新生の部位に容易に送達される。

例示として、レポーターがキレート化金属種（例えば、常磁性金属イオンまたは金属放射性核種）である場合、リンカーは金属キレート化基に結合した鎖、分子主鎖の側鎖であるか、または分子主鎖に組み入れられている多数の金属キレート化基を有する重合体鎖、分枝末端に金属キレート化基を有する分枝ポリマー（例えばデンドリメリックポリキラント）等を包含していてよい。リンカーにとって必要なことは、適切な期間ベクター部分とレポーター部分とと一緒に結合されることにつきる。適切な期間とは、造影剤がその所望の効果を発揮するのに十分な期間（例えば診断造影操作の過程で *in vivo*でのコントラストを増強するのに十分な期間）を意味する。

すなわち、ある種の状況下では、リンカーが投与後に生分解するのが望ましい

こともある。適切に生分解し得るリンカーを選定することにより、ベクターおよび(または)レポーターに対する生体分布(biodistribution)および生体除去(bioelimination)を変更させることができる。ベクターおよび(または)レポーターが生物活性を有しているか、または造影操作終了後も残存していると望ましくない効果を奏する可能性がある場合、ベクターおよび(または)レポーター部分の適切な生体除去または代謝性損傷を確実にする生分解性をリンカーでデザインするのが望ましい。すなわち、リンカーは、分解するとベクターからのレポーターの放出または巨大分子構造の破砕で生じる変更された生体分布パターンを有する分解産物を生成する生分解機能を含有していてよい。例として、キレート化金属イオンレポーターを担持するリンカーにとって、レポーターを含有する排出可能なキレート化合物を分解で放出する生分解機能をリンカーに組み入れることができる。従って、生分解機能を所望によりリンカー構造内に組み入れることができ、好ましくは、(a)分枝部位である部位で、(b)ベクターまたはレポーターのための結合部位またはその近辺で、または(c)生分解が生理学的に許容し得るか、または迅速に排出可能なフラグメントを生じるように組み入れることができる。

適当な生分解性官能基の例には、エステル、アミド、ジエステル(double ester)、リン酸エステル、エーテル、チオエーテル、グアニジル、アセタールおよびケタール官能基がある。

上述の如く、リンカー基は所望により、例えば水がキレート化常磁性金属イオンレポーターに到達するように造影剤の生体分布に影響を及ぼすか、または造影剤の適切な立体配座を確実にするその分子主鎖基に組み入れられていてよい。例示として、リンカー主鎖は部分的にまたは本質的に全体としてポリアルキレンオキシド鎖の一つまたは二つ以上からなっていてよい。

すなわち、リンカーは、リンカー主鎖(L_s)基を介して結合された場合によつては生分解性(V_b)およびレポーター結合(R_b)基の複合体とみなすことができ、ここでリンカー主鎖は生体分布を変更するためのリンカーサイド鎖(L_{ss})基を担持することができ、またそれ自体で生分解性官能基を組み入れることができる。 R_b

およびV₁結合基はリンカー主鎖からの側基であってもよいし、またリンカー主鎖の末端基であってもよく、例えば一つのL末端基に一つのR₁またはV₁基、R₁またはV₁基は一緒に二つのL末端基に連結し、または一つのL末端基は二つまたはそれ以上のR₁またはV₁基を担持している。LおよびL₁基は好都合にはオリゴマー性または重合体性構造（例えば、ポリエステル、ポリアミド、ポリエーテル、ポリアミン、オリゴペプチド、ポリペプチド、オリゴ糖および多糖、オリゴヌクレオチド等）であり、好ましくは少なくとも一部が親水性または親油性の性状を有する構造、例えば親水性、両親媒性または親油性構造を有している。

リンカーは例えば2kDまでの低い、中程度のまたは高い分子量であってよい。一般に、多数のベクターまたはレポーターを組み入れなければなら

ない場合、またはベクターとレポーターとの間に間隔をあけることが必要な場合、またはリンカー自体が生体分布の変更に当って役割を果たすべき場合、分子量のより高いリンカーが好ましい。しかし、一般には、リンカーは分子量100～100 000D、殊に120D～20kDである。

リンカーのベクターへのコンジュゲーションおよびリンカーのベクターへのコンジュゲーションは、上述の如く、いずれの適切な化学的接合技術、例えば共有結合（例えば、エステルまたはアミド形成）、金属キレート化またはその他の金属配位結合もしくはイオン結合であってよい。

適当なリンカーシステムの例には、US-A-5364613およびPCT/EP 90/00565のマグニファイア・ポリキラント構造、ポリアミノ酸（例えばポリリシン）、機能性PEG、多糖類、グリコサミノグリカン、例えばW0 93/06868およびAngew. Chem. Int. Ed. Engl. 29: 138-175 (1990) にTomalia等が記載のデンドリティック (dendritic) ポリマー、例えばW0 94/08629、W0 94/09056およびW0 96/26754に記載のPEG—キラントポリマー等がある。

レポーターがキレート化金属イオンである場合、リンカー基は一般にはキラント部分を組み入れている。あるいはまた、キレート化金属は微粒レポーター上またはその中に担持されていてよい。いずれの場合にせよ、例えば放射性薬品およびMRI造影剤の分野で周知である通常の金属キレート基を使用することができる。

。例えば、線状、環状および分枝鎖状ポリアミノーポリカルボン酸およびリンオキシ酸同等物および当該分野で知られているその他の硫黄および（または）窒素リガンド。例えばDTPA、DTPA-BMA、EDTA、DO3A、TMT（例えばUS-A-5367080参照）、BATおよび類縁体（例えば、Ohmono等、J. Med. Chem. 35: 157-162(1992)およびKung等、J. Nucl. Med. 25: 326-332(1984)）、Neuroliteの¹¹³S₃キラントECO、MAC（Jurisson等、Chem. Rev. 93: 1137-1156(1993)参照）、HIDA、DOXA（1-オキサー4,7,10-トリアザシクロドデカン三酢酸）、NOTA（1,4,7-トリアザシクロ

ノナン三酢酸）、TET（1,4,8,11-テトラアザシクロテトラデカン四酢酸）、THT4'-(3-アミノ-4-メトキシフェニル)-6,6''-ビス(1,N-ジカルボキシメチル-N-メチルヒドラジノ)-2,Z':6',2''-テルビリジン）等である。これに関して、例えばMR、X線および放射線診断剤での診断用金属のためのキレート化剤に関するSterling Winthrop, Nycomed (Nycomed ImagingおよびNycomed Salutarを含む) の特許文献を参照されたい。例えば、US-A-4647447、EP-A-71564、US-A-4687659、WO 89/00557、US-A-4885363およびEP-A-232751を参照。

レポーター

本発明の造影剤のレポーター部分はin vivo診断造影手法で直接または間接に検出し得るいずれの部分であってもよく、例えば検出可能な放射線を発するか、または発するようにされている部分（例えば放射性崩壊、蛍光励起、スピニ共鳴励起等により）、局所電磁場に影響を及ぼす部分（例えば、常磁性、超常磁性、フェリ磁性または強磁性種）、放射エネルギーを吸収または拡散する部分（例えば、発色團および発螢光團）、粒子（小胞含有液体を包含する）、重元素およびその化合物、および検出可能な物質を発生する部分等がある。

診断造影法で検出可能な非常に広い範囲の物質が当該分野で知られていて、そしてレポーターは使用される造影法に従って選択される。すなわち、例えば超音波造影については、エコー源物質またはエコー源物質を発生し得る物質が普通選択され、X線造影については、レポーターは一般には重原子（例えば、原子量38以上のもの）であるか、または重原子を含有し、MR造影については、レポーターは零でない核スピン同位元素（例えば¹³F）または不対電子スピンを有する物質

であり、それ故常磁性、超常磁性、フェリ磁性または強磁性特性を有する物質であり、光造影については、レポーターは光散乱体（例えば、着色または非着色粒子）、光吸収体または光発生体であり、磁気造影については、レポーターは検出可能な磁気特性を

有し、電気インピーダンス造影については、レポーターは電気インピーダンスに影響を及ぼし、またシンチグラフィー、SPECT、PET等については、レポーターは放射性核種である。

適當なレポーターの例は診断造影文献で広く知られている。例えば磁気酸化鉄粒子、キレート化常磁性金属（例えば、Gd、Dy、Mn、Fe等）である。例えば、US-A-4647447、PCT/GB 97/00067、US-A-4863715、US-A-4770183、WO 96/09840、WO 85/02772、WO 92/17212、PCT/GB 97/00459、EP-A-554213、US-A-5228446、WO 91/15243、WO 93/05818、WO 96/23524、WO 96/17628、US-A-5387080、WO 95/26205、GB 9624918.0等を参照。

レポーターとして特に好ましいのは次のようなものである：キレート化常磁性金属イオン例えばGd、Dy、FeおよびMn、特に大環状キラント基（例えば、テトラアザシクロドデカンキラント例えばDOTA、D03A、HP-D03Aおよびその類縁体）またはリンカーキラント基例えばDPTA、DTPA-BMA、EDTA、DPDP等でキレート化されている場合；金属放射性核種例えば^{99m}Tc、¹¹¹In、⁶⁷Sc、⁸⁹Y/⁹⁰Y、⁵⁷Cr、¹¹³Sa、⁶⁴Cu、¹³⁷Tm、¹⁹⁷Ru、¹⁸⁸Re、¹⁷⁷Lu、¹⁹⁹Au、²¹⁰Pbおよび¹⁴⁰Ce；300～1400nm、特に600nm～1200nm、殊に650～1000nmの吸収および（または）発光極大を有する発色團および発螢光團；キレート化重金属クラスターイオン（例えば、Wまたは鉻ポリオキソアニオンまたは硫黄または混合硫黄/酸素類縁体）；高原子番号（ヨウ素）または放射性原子例えば¹³¹I、¹³³I等である共有結合非金属イオン；小胞を含有するヨウ素化化合物等である。

一般的に言うと、レポーターは（1）金属が高原子番号金属（例えば37よりも大きい原子番号）、常磁性種（例えば、遷移金属またはランタニド）または放射性同位元素である場合、キレート化可能な金属または多原子金属含有イオン、（2）不対電子サイト（例えば、永存遊離ラジカル中の酸素または炭素）、高原子番号

非金属または放射性同位元素である共有結合非

金属種、(3)高原子番号原子を含有するか、協同磁気挙動（例えば超常磁性、フェリ常磁性または強磁性）を示すか、または放射性核種を含有する多原子クラスターまたは結晶、(4)発色團（この用語には蛍光性またはリン光性である種が含まれる）、例えば無機または有機構造、特に錯体形成金属イオンまたは広い非局在化電子システムを有する有機基、または(5)例えば広い非局在化電子システムによって電気インピーダンス変動特性を有する構造または基であってよい。

特に好ましいレポーター群の例を以下にさらに詳しく記載する。

キレート化金属レポーター：金属放射性核種、常磁性金属イオン、蛍光性金属イオン、重金属イオンおよびクラスターイオン

好ましい金属放射性核種には、次のものがあげられる。⁸⁹Y、^{99m}Tc、¹⁰³In、¹¹³Sn、¹³⁷Cs、¹³⁸Sn、¹⁵²Eu、¹⁵³Ta、¹⁵⁴Ru、¹⁸⁸Re、¹⁹⁷Ir、¹⁹⁸Os、²⁰³Lu、²⁰⁷Au、²⁰⁸Pbおよび¹⁴⁰Ce。

好ましい常磁性金属イオンには遷移およびランタニド金属（例えば、原子番号6～9、21～29、42、43、44または57～71を有する金属）のイオンがあげられ、特にCr、V、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、La、Ce、Pr、Nd、Pm、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、YbおよびLu、殊にSm、Cr、Fe、GdおよびDy、さらに殊にGdのイオンがあげられる。

好ましい蛍光性金属イオンにはランタニド、特にLa、Ce、Pr、Nd、Pm、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、YbおよびLuがあげられる。Euが殊に好ましい。

好ましい重金属含有レポーターには、Mo、Bi、SiおよびWの原子があげられ、特にW-91/14460、W-92/17215、W-96/40287およびW-96/22914に記載の多原子クラスターイオン（例えば、Bi化合物およびWおよびMo酸化物）であってよい。

金属イオンは望ましくはリンカー部分上のまたは粒子中もしくは粒子上のキラント基でキレート化されていてよく（例えば、小胞または多孔性も

しくは非多孔性無機または有機固体）、特に、線状、大環状、テルビリジンおよ

びN₃S₂キラント例えばDTPA、DTPA-BMA、EDTA、DODA、TMTである。適当なキラント基のその他の例はUS-A-4647447、WO 89/00557、US-A-5367080、US-A-5364613等に記載されている。

リンカ一部分または粒子はこのようなキラント基の一種または二種以上を含有し、また所望により二種以上の金属種で金属化されていてよい（例えば、異なる造影法で検出可能なレポーターを提供するように）。

金属が非放射性である場合は特に、ポリキラントリンカーまたは粒子状レポーターを使用するのが好ましい。

本文に記載のキラントまたはキレート基は、金属イオンまたは多原子イオン（例えばTc⁹⁰）を錯体化し得る種々のキレート化剤の一種または二種以上の残基を包含していてよい。

周知の如く、キレート化剤は、金属原子との配位結合により結合してキレート錯体またはキレートと称する環状構造を形成し得る供与体原子を含有する化合物である。この組の化合物はKirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Vol.5, 339-368に記載されている。

適当なキレート化剤の残基は次のものから選択することができる。ポリホスフェート、例えばトリボリリン酸ナトリウムおよびヘキサメタリン酸；アミノカルボン酸例えばエチレンジアミン四酢酸、N-(2-ヒドロキシ)エチレンジアミン三酢酸、ニトリロ三酢酸、N,N-ジ(2-ヒドロキシエチル)グリシン、エチレンビス(ヒドロキシフェニルグリシン)およびジエチレントリアミン五酢酸；1,3-ジケトン例えばアセチルアセトン、トリフルオロアセチルアセトン、およびテノイルトリフルオロアセトン；ヒドロキシカルボン酸例えば酒石酸、クエン酸、グルコン酸、および5-ースルホサリチル酸；ポリアミン、例えばエチレンジアミン、ジエチレントリアミン、トリエチレンテトラミン、およびトリアミノトリエチルアミン；アミノアルコール例えばトリエタノールアミンおよびN-(2-ヒドロキシエチル)エチレンジアミン；芳香族複素環式塩基、例えば2,2'-ジイミダゾール、ビロリンアミン、ジビロリンアミンおよび1,10-フェントロリン；フェ

ノール、例えばサリチルアルデヒド、ジスルホピロカテコールおよびクロモトロブ酸；アミノフェノール例えば8-ヒドロキシキノリンおよびオキシムスルホン酸；オキシム、例えばジメチルグリオキシムおよびサリチルアルドキシム；近接キレート化官能基を含有するペプチド例えばポリシスティン、ポリヒスチジン、ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、またはこれらのアミノ酸の組み合わせ；シップ塩基例えばジサリチルアルデヒド、1,2-プロビレンジイミン；テトラビロール例えばテトラフェニルポルフィンおよびフタロシアニン；硫黄化合物、例えば、トルエンジチオール、メソ-2,3-ジメルカブトコハク酸、ジメルカブトブロバノール、チオグリコール酸、エチルキサント酸カリウム、ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム、ジチゾン、ジエチルジチオリン酸およびチオ尿素；合成大環状化合物、例えばジベンゾ[18]クラウン-6、 $(\text{CH}_2)_6$ -[14]-4,11-ジエン-1-基、および(2,2,2-クリブテート)；ホスホン酸例えば二トリロトリメチレンホスホン酸、エチレンジアミンテトラ(メチレンホスホン酸)およびヒドロキシエチレンジホスホン酸、または上述した薬剤の2種以上の組み合わせ。適当なキレート化剤の残基は好ましくはポリカルボン酸基を包含し、そして好ましい例には、次のものが包含される：エチレンジアミン- $\text{N},\text{N},\text{N}',\text{N}''$ -四酢酸(EDTA)； $\text{N},\text{N},\text{N}',\text{N}'',\text{N}''$ -ジエチレン-トリアミン五酢酸(DTPA)；1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン- $\text{N},\text{N}',\text{N}'',\text{N}'''$ -四酢酸(DOTA)；1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン- $\text{N},\text{N}',\text{N}''$ -三酢酸(DO3A)；1-オキサ-4,7,10-トリアザシクロドデカン- $\text{N},\text{N}',\text{N}''$ -三酢酸(OTTA)；トランス(1,2)-シクロヘキサノジエチレン-トリアミン五酢酸(CDTPA)。

キレート化剤のその他の適当な残基は米国特許第5078985号に記載の如く例えばテクネチウムおよびレニウムのような金属のキレート化のために

変性されたタンパク質を包含している。この米国特許の記載を参照により本文に組み入れる。

キレート化剤の適当な残基は、例えば、次の米国特許に記載されているようなN3SおよびN2S2含有化合物からも誘導される：米国特許第4444690；4670545；4673562；4897255；4965392；4980147；4988496；5021556および5075099号。

キレート化剤のその他の適当な残基はPCT/US 91/08253に記載され、この記載を参照により本文に組み入れる。

好ましいキレート化基は、2-アミノメチルビリジン、イミノ酢酸、イミノ二酢酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、カルボニルイミノ二酢酸、メチレンイミノ酢酸、メチレンイミノ二酢酸、エチレンチオエチレン-イミノ酢酸、エチレンチオエチレンイミノ二酢酸、TMT、テルビリジニル基、テルビリジル基およびカルボキシメチルアミノ基からなるキレート化剤、または上述した酸のいずれかの塩からなる群から選択される。殊に好ましいキレート化基はDTPA、DTPA-BMA、DPBP、TMT、DOTAおよびHPD03Aである。

代表的なキレート化基はUS 5559214 A、WO 9526754、WO 9408624、WO 9409056、WO 9429333、WO 9408624、WO 9408629 A1、WO 9413327 A1およびWO 9412216 A1にも記載されている。

存在しているいずれのキレート化剤を金属化する方法は当業者の技術水準内にある。金属は三種の一般的な方法：すなわち、直接組み込み、鋳型合成および（または）金属交換反応のいずれか一つによりキラント部分に組み込むことができる。直接組み込みが好ましい。

すなわち、金属イオンが、例えばキレート剤含有部分の水溶液を好ましくは約4～約11のpH領域を有する水溶液中の金属塩に単に曝すか、またはそれと混合することによって、キレート化剤と容易に錯体形成するのが望

ましい。塩はいずれの塩であってもよいが、好ましくは塩は金属の水溶性塩例えばハロゲン塩であり、そしてさらに好ましくはこのような塩は金属イオンとキレート化剤との結合を妨害しないように選択する。キレート化剤含有部分は好ましくは約5～約9、さらに好ましくは約6～約8のpHの水溶性中にある。キレート化剤含有部分は緩衝剤塩例えばクエン酸塩、酢酸塩、リン酸塩およびホウ酸塩と混和して最適pHを生じることができる。好ましくは、緩衝剤塩はその次の金属イオンがキレート化剤に結合するのを妨害しないように選択される。

診断造影では、ベクター・リンカー・レポーター(VLR)構成体は好ましくはこ

のような診断造影適用に当り有効な金属放射性核種イオン対キレート化剤の比を含有している。好ましい態様では、キレート化剤当たりの金属イオンのモル比は約1:1,000乃至約1:1である。

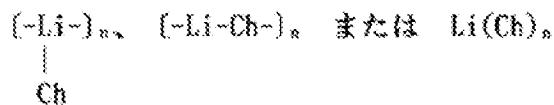
放射線治療の適用においては、VLRは好ましくはこのような治療の適用で有効な金属放射性核種イオン対キレート化剤の比を含有している。好ましい態様において、キレート剤当りの金属イオンのモル比は約1:100乃至約1:1である。

放射性核種は例えばSc、Fe、Pb、Ga、Y、Bi、Mn、Cu、Cr、Zn、Ge、Mo、Ru、Sn、Sr、Sm、Lu、Sb、W、Re、Po、TaおよびTlの放射性同位元素から選択することができる。好ましい放射性核種には⁸⁴Sc、⁶³Cu、⁶⁷Cu、⁸⁸Pb、⁴⁵Ca、⁹⁰Y、⁸⁵S、²¹²Bi、¹⁸⁸Reおよび¹⁸⁸Reが包含される。これらのうち、⁹⁰Yが殊に好ましい。これらの放射性同位元素は原子形態であり、好ましくはイオン性である。

リンカー部分が単一のキラントを含有している場合、このキラントは例えばベクターでアミン基、チオール基またはヒドロキシ基とエステル、アミド、チオエステルまたはチオアミド結合を形成し得るキラントの金属配位基の一つを介して、ベクター部分に直接連結されていてよい。あるいはまた、ベクターとキラントとはキラント主鎖に連結している官能基、例えば、Meares等がJACS 110: 6266-6267(1988)に提案しているようなDOTAの環炭素に連結しているOH-チフェニル-NC基を介して直接連結されていてもよいし、またはホモまたはヘテロ二官能性リンカー例えばビスアミン、ビスエボキシド、ジオール、二酸、二官能基化PEG等を介して間接的に連結されていてもよい。この場合、二官能基性リンカーは好都合にはベクターとキラント残基との間に1～200個、好ましくは3～30個の原子の鎖を提供する。

リンカー部分は多数のキラント基を含有する場合、リンカーは好ましくは次の

式の部分であるか、またはこれらの部分を含有している。



ここで、Chはキラント部分であり、そしてIはリンカー主鎖成分であり、すなわちリンカーは好ましくは側鎖キラント、主鎖内キラントもしくは末端キラントまたはこれらの組み合わせを有している。側鎖および主鎖内重合体性構造は分枝鎖であってもよいが、さらに好ましくは線状であり、そして重合体中の反覆単位（LICH）またはその他の反覆単位は主鎖内または側鎖生物分布修飾基例えば№0 94／08629、№0 94／09056および№0 96／20754におけるようなポリアルキレン基を有していてよい。№0 93／06868におけるようなデンドリティック重合体であってよい末端キラント構造Li(Ch)_nはキラントが占めていない末端に連結された生物分布を有していてよく、また№0 95／28966におけるようなリンカー構造内に生分解促進部位を有していてよい。

ポリキラントリンカー内のキラント部分はキラントの主鎖官能化を介して、またはキラントの金属配位基の一種または二種以上を利用することにより、または例えばPCT／EP 96／00565のポリリジン-ポリDTPA、ポリリジン-ポリDOTAおよび所謂マグニファイア(magnifier)ポリキラントにおけるように、酸キラントとアミンまたはヒドロキシ基持リinker主鎖との間のアミドまたはエーテル結合形成により連結されていてよい。このようなポリキラントリンカーは直接（例えば、ポリキラントリンカー中のアミン、酸またはヒドロキシ基を利用して）またはモノキラントリンカーについて前述したように二官能性リンカー化合物を介してベクター基の一つまたは二つ以上に共役されていてよい。

キレート化された種が微粒（または分子凝集体例えば小胞体）リンカーで担持されている場合、キレートは例えば粒子内に封入されている非連結モノまたはポリキレート（例えばGd-DTPA-BMAまたはGd-HP-003A）であってよいか、またはキレートは共有結合により、または小胞の膜とモノ／ポリキレート上の定着基（例えば、親油性基）の相互作用により粒子に共役されたモノまたはポリキレートであってよい（例えば、PCT／GB 95／02378を参照）。

非金属原子レポーター

好ましい非金属原子レポーターには、例えば¹²³Iおよび¹³¹Iのような放射性同位元素、および例えば¹⁸Fのような零でない核スピン原子およびIのような重金属原子が包含される。

このようなレポーター、好ましくは例えば2～200のような多数のレポーターは通常の化学合成技術を用いて、またはトリヨードフェニル基のような支持基を介してリンカー主鎖に共有結合されている。

本発明の態様では、ヨウ素の放射性同位元素の使用が具体的に企図されている。例えば、ベクターまたはリンカーが共有結合形成反応においてヨウ素で化学的に置換されている置換分例えばヒドロキシフェニル官能基を

含有する置換分からなる場合、このような置換分はヨウ素の放射性同位元素で当該分野で周知の方法によって標識されている。ヨウ素体(species)は治療的および診断造影適用で使用することができる。同時に、同じベクター・リンカーでのキレート化剤中の金属は治療的または診断造影適用で使用することもできる。

上述した金属キレートによる如く、このような金属原子レポーターはリンカーに連結してもよいし、また例えば小胞のような微粒リンカー中または上に担持されていてもよい(BO 95/26205およびGB 9624918.0を参照)。

金属レポーターに関連して上述したタイプのリンカーは非金属原子レポーターに使用することもでき、かかるレポーターを担持する非金属原子レポーターまたは基はキラント基の若干または全体の場を占めている。

有機の発色團又は発螢光團レポーター

好適な有機の発色團又は発螢光團レポーターには、広範な非局在電子系を有するグループ、例えば、シアニン、メロシアニン、フタロシアニン、ナフタロシアニン、トリフェニルメチン、ポルフィリン、ビリリウム色素、チアビリリウム色素、スクアリリウム色素、クロコニウム色素、アズレニウム色素、インドアニリン、ベンゾフェノキサジニウム色素、ベンゾチアフェノチアジニウム色素、アントラキノン、ナフトキノン、インダスレン、フタロイルアクリドン、トリスフェノキノン、アゾ色素、及び分子内又は分子間電荷移動色素及び色素錯体、トロボ

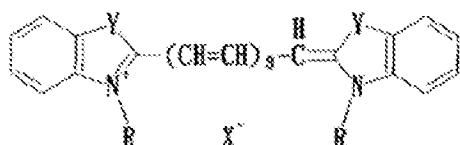
ン、テトラジン、ビス(ジチオレン)錯体、ビス(ベンゼン-ジチオレート)錯体、ヨードアニリン色素、ビス(S,0-ジチオレン)錯体、等が含まれる。好適な有機又は金属化有機発色團の例が、“Topics in Applied Chemistry: Infrared absorbing dyes” (Ed. M. Matsuoka, Plenum, NY 1990) , “Topics in Applied Chemistry: The Chemistry and Application of Dyes” (Waring等, Plenum, NY, 1990) , “Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals” (Haugland, Molecular Probes Inc, 1996) , DE-A-4445065,

DE-A-4326466、JP-A-3/228046、NarayananらのJ. Org. Chem. 60:2391-2395(1995)、LipowskaらのHeterocyclic Comp. 1:427-430(1995)、FabianらのChem. Rev. 92:1197(1992)、W096/23525、StrekowskaらのJ. Org. Chem. 57:4578-4580(1992)、W0(Axis)及びW0 96/17628の文献に見出される。使用できる発色團の特定の例として、キシレンシアノール、フルオレセイン、ダンシル、NBD、インドシアニングリーン、DODCI、DTDCI、DOTCI及びDDTCIが含まれる。

特に好ましくは、ヘモグロビン吸収との干渉を避けるため、吸収極大が600~1000nmの範囲を有するグループである(例えば、キシレンシアノール)。

さらに、そのような例として以下のものが含まれる。

シアニン色素：ヘプタメチニシアニン色素のような、例えば前掲文献Matsuokaの第26頁の表IIに記載された下記4a~4gの化合物



4 a : YはS、XはI、RはEt

4 b : YはS、XはClO₄、RはEt

4 c : YはCMe₂、XはI、RはMe

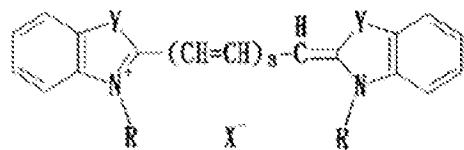
4 d : YはCMe₂、XはClO₄、RはMe

4 e : YはCH=CH、XはI、RはEt

4 f : YはCH=CH、XはBr、RはEt

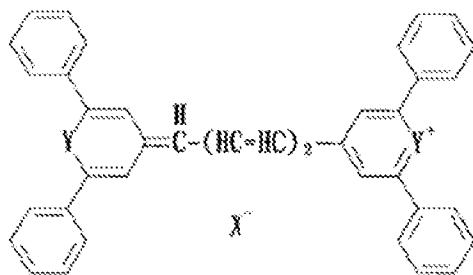
4 g : YはCH=CH、XはClO₄、RはEtである)

並びに、前掲文献Matsuokaの第28頁の表IIIに記載された化合物、すなわち、



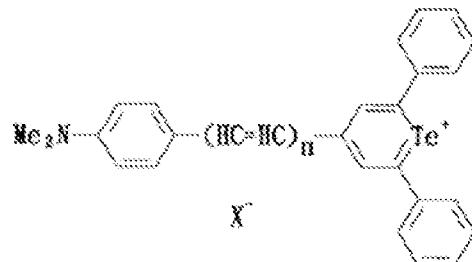
〔ここで、YがOのとき、XはI、RはMe、YがOMe₂のとき、XはI、RはMe、YがSのとき、XはBr、RはEtである〕。

カルコゲノビリロメチン色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第31頁の化合物12、すなわち、



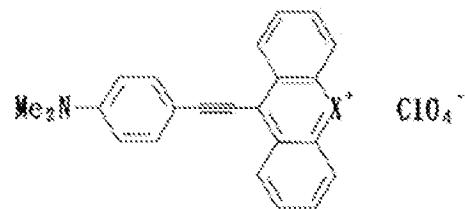
〔ここで、YはTe、Se、O又はNRである〕である。

モノカルコゲノビリロメチン色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第31頁の化合物13、すなわち、



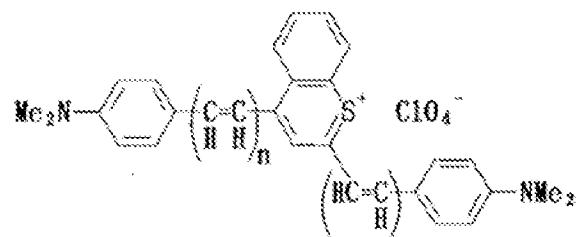
〔ここで、nは1又は2である〕である。

ビリリウム色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第32頁の化合物14 (X=O)、すなわち、



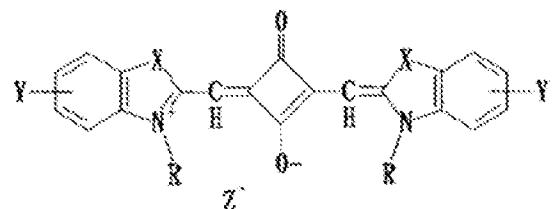
〔ここで、XはO、S、又はSeである〕である。

チアビリリウム色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第32頁の化合物15及び第167頁の化合物1、すなわち、



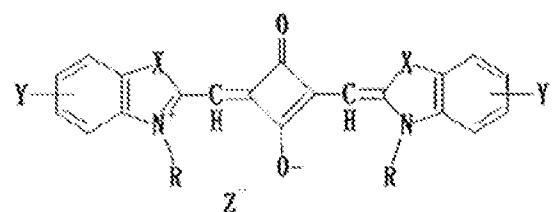
[ここで、 n は1又は2である] である。

スクアリリウム色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第30頁の化合物10および表IV、すなわち、



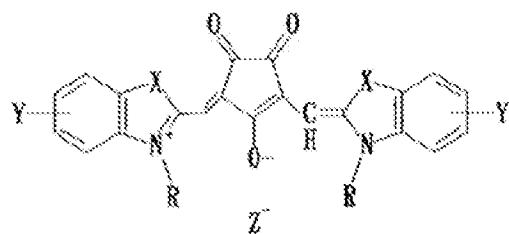
(ここで、XがCH=OHのとき、YはH及びRはEt、XがSのとき、YはH及びRはEt、及びXがOEtのとき、YはH及びRはEtである)

並びに前掲文獻¹⁾の第26頁の化合物 6 であり、すなわち、



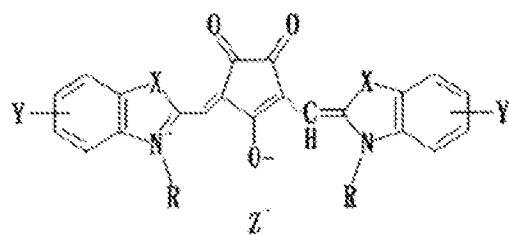
(ここで、XはCH=CH、YはH、及びRはEtである)である。

クロコニウム色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第30頁の化合物 9 および表IV、すなわち、



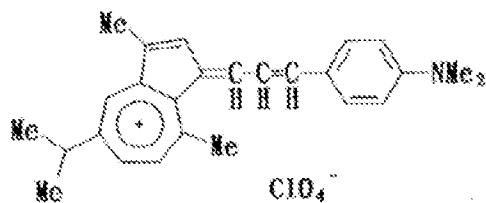
[ここで、XがCH=CHのとき、YはH及びRはEt、XがSのとき、YはH及びRはEt、XがSのとき、YはH及びRはEt、XがCMe₂のとき、YはH及びRはMeである]

並びに前掲文献Matsuokaの第26頁の化合物7、すなわち、



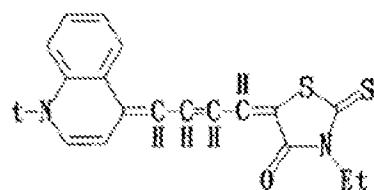
[ここでXはCH=CH、YはH、及びRはEtである]である。

アズレニウム色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第27頁の化合物8、すなわち、



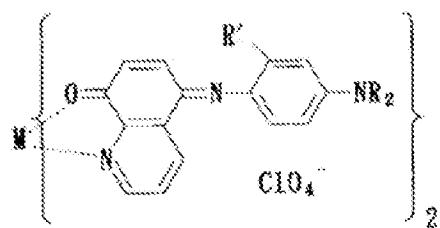
である。

メロシアニン色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第32頁の化合物16 (R = Me)、すなわち、



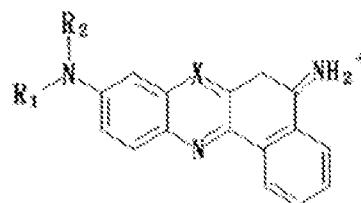
である。

インドアニリン色素は、インドアニリン色素の銅やニッケルとの錯体のようなもので、例えば前掲文献Matsuokaの第63頁の化合物6、すなわち、



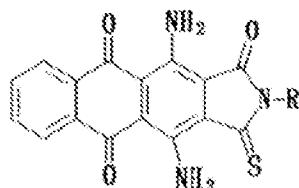
（ここでRがEtのとき、R'はMe、MはCu、RがEtのとき、R'はMe、MはNi、RがMeのとき、R'はH、MはCu又はRがMeのとき、R'はH、MはNiである）である。

ベンゾ〔a〕フェノキサジニウム色素及びベンゾ〔a〕フェノチアジニウム色素としては、例えば前掲文献Matsuokaの第201頁に示されるようなもの、すなわち、



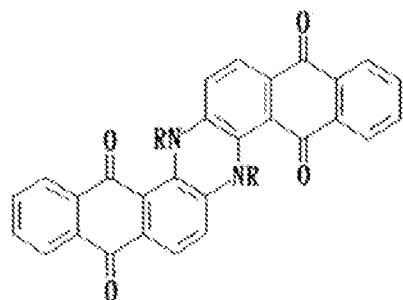
（ここでXはO又はSである）である。

1,4-ジアミノアントラキノン（N-アルキル）-3'-チオキソ-2,3-ジカルボキシimidととしては、例えば前掲文献Matsuokaの第41頁の化合物20、すなわち、



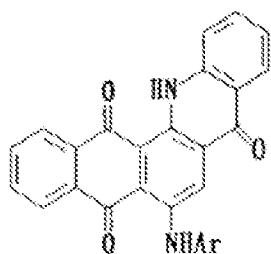
である。

インダンスレン顔料は、例えば、



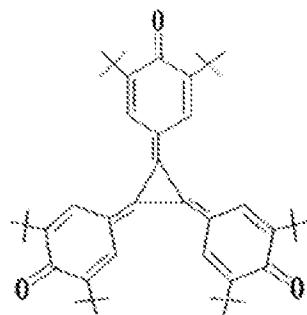
である（前掲Matsuokaの第41頁の化合物21参照）。

2-アリールアミノ-3,4-フタロイルアクリドン色素は、例えば、前掲Matsuokaの第41頁の化合物22、



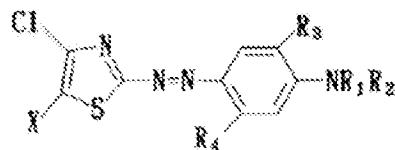
である。

トリスフェノキノン色素は、例えば前掲Matsuokaの第41頁の化合物23、

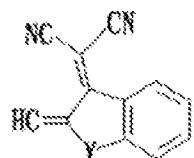


である。

アゾ色素、例えばモノアゾ色素は、前掲Matsuokaの第90頁の化合物2、すなわち、

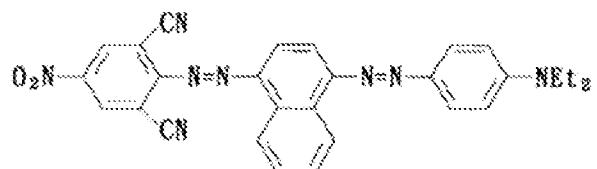


[ここでXがCH=C(CN)₂のとき、R₁とR₂はEt、R₃とR₄はH、XがC(CN)=C(CN)₂のとき、R₁とR₂はEt、R₃とR₄はH、又はXが



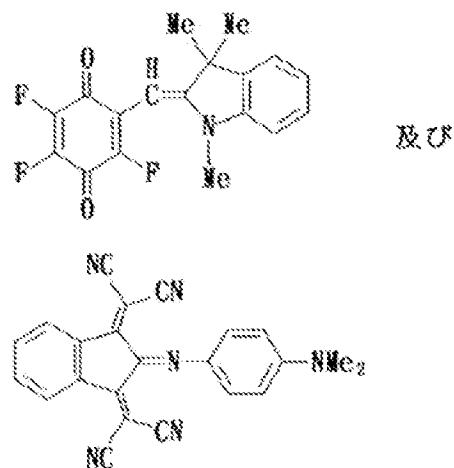
である場合は、YがC=Oのとき、R₁とR₂はEt、R₃とR₄はHであり、またはYがSO₂のとき、R₁はH、R₂はCH(Me)₂Ph、R₃はOMe、R₄はNHAcである]である。

アゾ色素、例えばポリアゾ色素としては、前掲Matsuokaの第91頁の化合物5、すなわち、



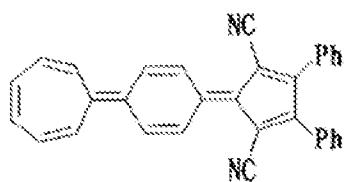
である。

分子内電荷移動供与体-アクセプター赤外色素は、例えば前掲Matsuokaの第91頁の化合物6と7、すなわち、



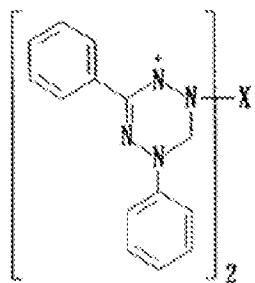
である。

非ベンゼン系芳香族色素は、例えば前掲Matsuokaの第92頁の化合物8、トロボンであり、すなわち、

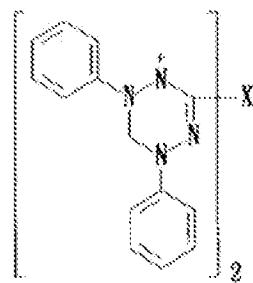


である。

テトラジンラジカル色素は、例えば前掲Matsuokaの第92頁の化合物9、すなわち、

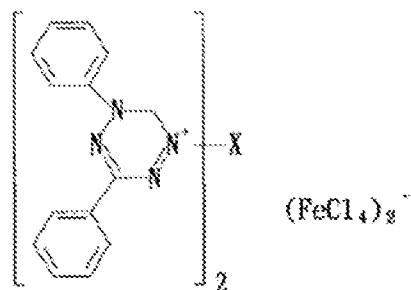


（ここで、Xはp-フェニレン又はXはp-テルフェニレンである）
または前掲Matsuokaの第92頁の化合物10、すなわち、



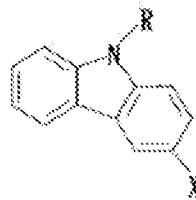
〔ここで、Xはp-ビフェニルである〕である。

テトラジンラジカル色素のカチオン塩は、例えば前掲Matsuokaの第92頁の化合物11、すなわち、



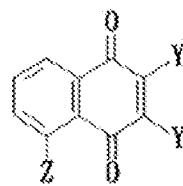
〔ここで、Xはp-フェニレンである〕である。

供与体-アクセプター分子間電荷移動色素は、例えば前掲Matsuokaの第93頁の化合物13b及び14aから14cのCT錯体、すなわち、



供与体

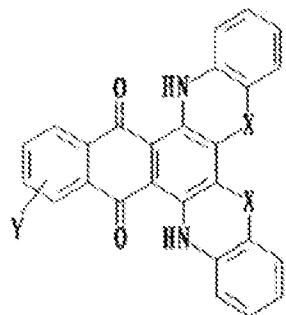
及び



アクセプター

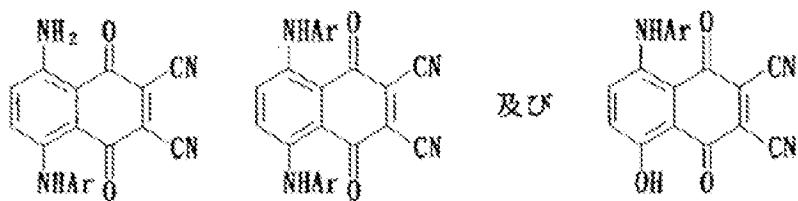
〔ここで、供与体中のXがCH=N-N(Ph)2である場合、アクセプター中でa) YはC≡N、ZはNO2、b) YはCN、ZはH、又はc) YはCl、ZはNO2である〕である。

アントラキノン色素は、例えば前掲Matsuokaの第38頁の化合物12（XはS又はSe）、すなわち、



〔ここで、XはS又はSeであり、Yはテトラクロロ、テトラブロモ、2,3-ジカルボン酸、2,3-ジカルボン酸無水物又は2,3-ジカルボン酸N-フェニルイミドである〕である。

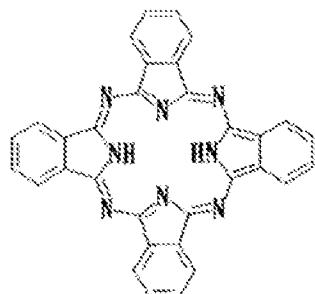
ナフトキノン色素は、例えば前掲Matsuokaの第37頁の化合物2、3及び4、すなわち、



である。

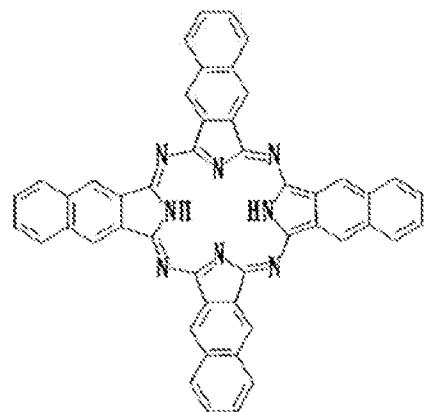
金属化アゾ色素は、ニッケル、コバルト、銅、鉄及びマンガンを含むようなアゾ色素である。

フタロシアニン色素は、例えば前掲Matsuokaの第51頁の表IIの化合物1、すなわち、



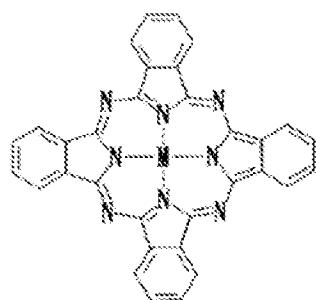
である。

ナフタロシアニン色素は、例えば前掲Matsuokaの第51頁の表IIの化合物3、すなわち、



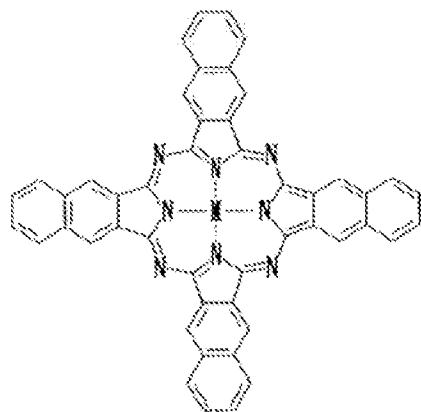
である。

金属フタロシアニンは、例えばアルミニウム、シリコン、ニッケル、亜鉛、鉛、カドミウム、マグネシウム、バナジウム、コバルト、銅、及び鉄を含有するフタロシアニンであり、例えば前掲Matsuokaの第52頁の表IIの化合物1、例えば



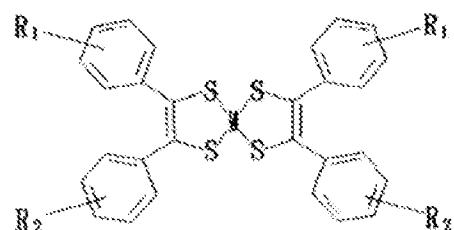
〔ここで、例えばMはMgである〕である。

金属ナフタロシアニンは、例えばアルミニウム、亜鉛、コバルト、マグネシウム、カドミウム、シリコン、ニッケル、バナジウム、鉛、銅、及び鉄を含有するナフタロシアニンであり、前掲Matsuokaの第52頁の表IIの化合物3に見出される、例えば、



〔ここで、例えばMはMgである〕である。

ビス(ジチオレン)金属錯体は、ニッケル、コバルト、銅及び鉄のような金属イオンがビス(S,S'-2座)配位子錯体中の4個の硫黄原子に配位されてなるものであり、例えば、前掲Matsuokaの第59頁の表1に見出される



〔ここで、

R₁とR₂はCF₃、MはNi、

R₁とR₂はフェニル、MはPd、

R₁とR₂はフェニル、MはPt、

R₁は炭素数が4～10のアルキル、R₂はH、MはNi、

R₁は炭素数が4～10のアルキル、R₂はH、MはPd、

R₁は炭素数が4～10のアルキル、R₂はH、MはPt、

R₁とR₂はフェニル、MはNi、

R₁とR₂はp-CH₃-フェニル、MはNi、

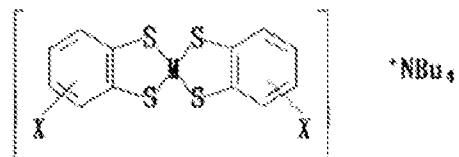
R₁とR₂はp-CH₃O-フェニル、MはNi、

R₁とR₂はp-Cl-フェニル、MはNi、

R₁ と R₂ は p-CH₃-フェニル、M は Ni、
 R₁ と R₂ は 3,4-ジCl-フェニル、M は Ni、
 R₁ と R₂ は o-Cl-フェニル、M は Ni、
 R₁ と R₂ は o-Br-フェニル、M は Ni、
 R₁ と R₂ は 3,4-ジCl-フェニル、M は Ni、
 R₁ と R₂ は p-CH₃、M は Ni、
 R₁ と R₂ は 2-チエニル、M は Ni、
 R₁ は p-(CH₃)₂N-フェニル、R₂ は フェニル、M は Ni、及び
 R₁ は p-(CH₃)₂N-フェニル、R₂ は p-H-N-フェニル、M は Ni である)

である。

ビス(ベンゼンジチオレート)金属錯体は、ニッケル、コバルト、銅、及び鉄などの金属イオンが配位子錯体中の4個の硫黄原子に配位されてなり、例えば、前掲Matsuokaの第62頁の表11に見出される、すなわち、



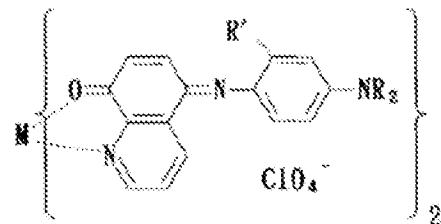
(ここで、

X は テトラメチル、M は Ni、
 X は 4,5-ジメチル、M は Ni、
 X は 4-メチル、M は Ni、
 X は テトラクロロ、M は Ni、
 X は H、M は Ni、
 X は 4-メチル、M は Co、
 X は 4-メチル、M は Cu、及び
 X は 4-メチル、M は Fe)

である。

N,0-2座インドアニリン色素は、ニッケル、コバルト、銅及び鉄などの金属

イオンが二つのN,N-2座インドアニリン配位子中の2個の窒素原子と2個の酸素原子に配位されてなり。例えば前掲Matsuokaの第63頁の表IVの化合物6、例えば



[ここで、

RはEt、R'はMe、MはCu、

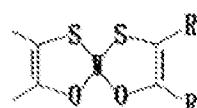
RはEt、R'はMe、MはNi、

RはMe、R'はH、MはCu、及び

RはMe、R'はH、MはNiである]

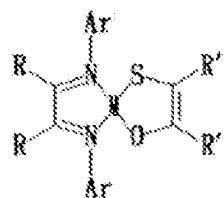
である。

ビス(S,S-ジチオレン)金属錯体は、ニッケル、コバルト、銅及び鉄などの金属イオンがビス(S,S-2座)配位子錯体中の2個の硫黄原子と2個の酸素原子に配位されてなり、例えば米国特許第3,806,462号に見出される、



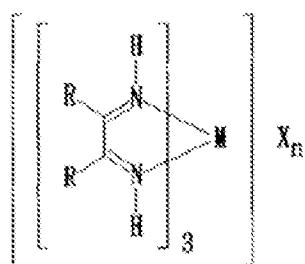
である。

a-ジイミン-ジチオレン錯体は、ニッケル、コバルト、銅及び鉄などの金属イオンが混合S,S-及びN,N-2座ジリガンド錯体中の2個の硫黄原子と2個のイミノ窒素原子に配位されてなり、例えば、前掲Matsuokaの第180頁の表IIの下から2番目に見出され（同様に、日本国特許62/39,682、63/126,889及び63/139,303参照）、例えば、



である。

そして、トリス(アゾイミン)錯体は、金属イオンがトリリガンド錯体中の6個の窒素原子に配位されてなり、例えば、前掲Matsuokaの第180頁の表IIの最後の化合物に見出され(同様に、日本国特許61/20,002及び61/73,902参照)、例えば、



である。

可視色素の代表的な例としては、フルオレセイン誘導体、ローダミン誘導体、クマリン、アゾ色素、金属化可能な色素、アントラキノン色素、ベンゾジフラン色素、多環式芳香族カルボニル色素、インジゴイド系色素、ポリメチン色素、アザカルボシアニン色素、ヘミシアニン色素、バルビツエート、ジアザヘミシアニン色素、ストリル色素、ジアリールカルボニウム色素、トリアリールカルボニウム色素、フタロシアニン色素、キノフタロン色素、トリフェノジオキサジン色素、ホルマザン色素、メチレンブルー、アズレA、アズレB及びアズレCのようなフェノチアジン色素、オキサジン色素、チアジン色素、ナフトラクタム色素、ジアザヘミシアニン色素、アゾビリドン色素、アゾベンゼン色素、媒染染料、酸性色素、塩基性色素、金属化及びプレ金属化色素、キサンテン色素、直接染料、前駆体ロイコ色素の色調が変換されて深い色調の色素を製造するため酸化が可能

であるロイコ色素、及びWaring, D. R. とallas, G. らの "Topics in Applied Chemistry: The Chemistry and Application of Dyes" (Plenum Press, New York

、NY、1990)に挙げられた他の色素である。補足すべき色素は、Haugland, R. P. の“Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals”(Sixth Edition, Molecular Probes Inc, Eugene OR, 1996)に見出される。

かかる発色團又は発螢光團は、ベクターに直接共有結合的に連結していても、或いは、リンカー構造に連結するか組み込まれていてもよい。金属レポーターに関連して上記したタイプのリンカーは、再度、発色團又は発螢光團がキラントグループのいくつか又は全部の代わりをするように有機の発色團又は発螢光團のために使用される。

既述した金属キラントに伴って、発色團又は発螢光團は、粒状のリンカー部分に取り込まれて又は付着して、例えば小胞に取り込まれ若しくは小胞中に付着して、又は光散乱レポーターとしても機能しうる不活性のマトリックス粒子に共有結合的に連結されて担持される。

粒子状レポーターまたはリンカーレポーター

粒子状レポーターおよびリンカーレポーターは一般に2つのカテゴリーすなわちレポーターを担持または含むマトリックスまたはシェルからなるものおよび粒子マトリックスそれ自体がレポーターであるものに分類される。第1のカテゴリーの例は、コントラストに有効なレポーター例えばキレート化常磁性金属または放射性核種または水溶性ヨウ素化X線造影剤を含む液相または固相を含有する小胞(例えば、ミセルおよびリボソーム)；レポーターの入った多孔性粒子、例えば常磁性金属の入ったモレキュラーシープ粒子；および例えばレポーターが結合または被覆された不活性な生体許容可能なポリマーの固体粒子例えば染料入りポリマー粒子である。

第2カテゴリーの例は、有機または無機光散乱粒子、磁性粒子(すなわち、超常磁性(supra paramagnetic)、強磁性またはフェリ磁性粒子)およ

び染料粒子である。

好適な粒子状レポーターまたはレポーターリンカーには、超常磁性粒子(US-A-4770183、PCT/GB 97/00067、WO 96/09840などを参照)、エコー発生性小胞(WO 92/17212、PCT/GB 97/00459などを参照)、ヨウ素含有小胞(WO 95/26205

およびGB 9624918.0参照) および染料の入ったポリマー粒子 (WO 96/23524参照) がある。

粒子状レポーターはその表面に直接または間接的に結合した1種またはそれ以上のベクターを有していてもよい。一般に、粒子当たり複数 (例えば、2~50) のベクター部位が結合していることが好ましい。所望の標的ベクターの他に、流れ減速ベクターが粒子に結合していることが特に好都合である。すなわち、造影剤の毛細血管または標的器官への通過を遅延させるのに十分であるがそれ自体では造影剤を不動にするのに不十分な、毛細管ルーメンまたはその他の器官の表面に対する親和性を有するベクターが好都合である。さらに、そのような流れ減速ベクター (例えば、GB 9700699.3に記載) は、その標的サイトにいったん結合されると造影剤を固定する役目をする。

ベクターと粒子の結合が達成される手段は、粒子表面の性質に依存する。無機粒子の場合、粒子への結合は例えばベクター上またはベクターに結合したリンカー上の金属結合基 (例えば、ホスフェート、ホスホネートまたはオリゴまたはポリホスフェート基) 間の相互作用によるかもしれない。有機粒子 (例えば、ポリマー粒子) の場合、ベクターの結合は粒子表面上の基とベクター中の反応性基例えばアミドまたはエスチル結合との間の直接共有結合によるか、あるいはベクターおよび粒子のリンカーへの共有結合によるかもしれない。キレート化金属レポーターに関して上述したタイプのリンカーを用いてもよいが、一般にそれらのリンカーは粒子同士を結合するために用いられないであろう。

非固体粒子例えば小滴 (例えば、US-A-5318767, US-A-5451393, US-A-

5352459およびUS-A-5569448に記載されているような水不溶性ヨウ素化液体の小滴) および小胞の場合、リンカーは疎水性「アンカー」基例えば粒子表面を浸透しかかつベクターを粒子に結合する飽和または不飽和C₁₂~C₁₈鎖を含有するのが好都合である。したがって、リン脂質小胞の場合、リンカーはベクターを小胞膜と適合し得るリン脂質と共有結合により結合させるのに役立つかもしれない。小胞および無機粒子に結合するリンカーの例は、GB 9622368.0およびPCT/GB 97/00067に記載されている。

ベクターの他に、その他のもの、例えば安定剤(凝集防止)およびPEGのような生体内分布モディファイアを粒子表面に結合させてもよい。そのようなものは例えばPCT/GB 97/00067、WO 96/09840、EP-A-284549およびUS-A-4904479に論述されている。

本発明のV-L-R剤は、レポーターに直接または間接的に結合された受容体標的ベクターを有していることが好ましく、例えば上記ベクターは共有結合されたヨウ素ラジオアイソトープによって、粒子状レポーターまたはリンカーレポーター例えば超常磁性結晶(場合により、例えばPCT/GB 97/00067のように被覆されている)または小胞例えばヨウ素化造影剤含有ミセルまたはリボソームに直接または有機リンカー基を介して結合した金属キレートによって結合されている。

簡単に云えば、MRI、X線、光画像形成、核画像形成、磁気断層撮影および電気インピーダンス断層撮影の画像様式の場合、好ましいレポーターは下記の通りである。

MRIの場合：超常磁性酸化鉄粒子、通常約80nmより小さい粒子サイズを有するもの。特に、高分子電解質、PEG、澱粉および加水分解澱粉のような種々の被覆材で被覆された酸化鉄が好ましい。キレートと粒子状物質の両方を含有する常磁性金属物質も有用である。

光画像形成の場合：任意の光画像形成用レポーター基。近赤外域で吸収す

る物質に集中すべきである。

核医学の場合：^{99m}Tcまたは¹¹¹Inならびに¹³¹I、¹³²I、¹³³I、⁷⁵Brまたは⁷⁷Brのような放射線標識ハロゲン置換基を有する直接放射線標識ベクターからなる放射性キレート。

磁気断層撮影の場合：上述した超常磁性酸化鉄粒子。

電気インピーダンス断層撮影の場合：多イオン性種例えば繰返し単位にイオン性基を有するポリマー。

本発明の剤は特定の画像形成技術を用いて所望のコントラストを得るのに十分な量で画像用として患者に投与してもよい。レポーターが金属の場合、通常患者

の体重1kg当たり0.001~5.0mmolの画像形成用キレート化金属イオンの投与量が十分なコントラスト強化を得るのに有効である。大抵のMRI適用に好適な画像形成用金属イオンの投与量は体重1kg当たり0.02~1.2mmolの範囲であるが、X線適用の場合は体重1kg当たり0.05~2.0mmolの投与量が通常X線減衰を達成するのに有効である。大抵のX線適用に好適な投与量は体重1kg当たり0.1~1.2mmolのランタナイトまたは重金属化合物である。レポーターが放射性核種の場合、通常70kgの体重当たり0.01~100mCi好ましくは0.1~50mCiの投与量で十分である。レポーターが超常磁性粒子の場合、投与量は通常体重1kg当たり0.5~30mgのFeである。

本発明の化合物の治療用の投与量は処置される条件に依存するが、通常体重1kg当たり1pmol~1nmolのオーダーである。

本発明の化合物は慣用の医薬または獣医薬助剤、例えば乳化剤、脂肪酸エステル、ゲル化剤、安定剤、酸化防止剤、浸透圧調整剤、緩衝剤、pH調整剤などを用いて調剤にすることができる、そして非経口投与例えば注射または注入あるいは血管系への直接投与に適した形態にしてもよい。すなわち、本発明の化合物は生理学上許容し得るキャリア媒体例えば注射用の水中的溶液、懸濁液および分散液のような慣用の医薬投与形態にしてもよい。

それ故、本発明の化合物は生理学上許容し得るキャリアまたは賦形剤を用いて当業者に知られた方法で投与用に調剤することができる。例えば、場合により本発明の化合物に医薬上許容し得る賦形薬を加えて水性媒体中に懸濁または溶解させてもよく、それにより得られた溶液または懸濁液は安定化される。

非経口的に投与可能な形態例えば静脈注射用の溶液は滅菌されかつ生理学上許容し得ない剤を含有しないものであって、投与時の刺激またはその他の悪影響を最小限にする低い浸透圧を有すべきであり、したがって造影剤は等張性またはわずかに浸透圧の高いものでなければならない。適当なビヒクルには、非経口用溶液を投与するために慣用的に用いられる水性ビヒクル例えば塩化ナトリウム注射液、リンガー(Ringer)の注射液およびRemington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., pp. 1405~1412および1461~1487(1975)およびThe National Formulary XIV, 14th ed. Washington:American Pharmaceu

tical Association (1975) に記載されているようなその他の溶液が包含される。これらの溶液は非経口用溶液のために慣用的に用いられる防腐剤、抗菌剤、緩衝剤および酸化防止剤、賦形剤およびキレートと相容しあつ製品の製造、保存または使用に影響を与えないその他の添加剤を含有することができる。

式Iの剤は疾病状況の治療ならびにインビビオ造影で検出できる治療において治療上有効である。したがって、例えばレポーター部位のベクターは例えば放射性核種レポーターの放射線治療効果、発色團(または発螢光團)レポーターの光力学治療における効力あるいは、ベクター部位の化学療法効果によって、治療効力を有することができる。

したがって、治療組成物の製造および人または動物の治療または予防法における式Iの剤の使用は、本発明の別の局面を表すものと考えられる。

本発明を以下の非限定的実施例によって説明する。特に断らない限り、

%はすべて重量による。

実施例 1

脈管形成のMR画像形成用造影剤

化合物1

リシン (0.1 g、0.7mmol) を、乾燥DMF (N,N-ジメチルホルムアミド) 中のN-[(3S)-ヒドロキシ-4-(N-ヒドロキシアミノ)-2R-イソブチルスクシニル]-L-(4-オキシメチルカルボキシ)フェニルアラニン-N-メチルアミド (0.3 g、0.7mmol、W0 94/02447に従って製造された) およびDCC (N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド) の溶液に加える。反応混合物を周囲温度で攪拌し次いでTLCに付する。分散液を+4℃で一晩放置する。分散液を濾過しそして溶媒を回転蒸発させた後、物質をクロマトグラフィーで精製する。

化合物2

ジエチレントリアミンペンタ酢酸二無水物 (17.9 g、50mmol) を乾燥DMFに溶解しそして乾燥DMFに溶解した化合物1 (0.3 g、0.5mmol) を加える。反応混合物を窒素雰囲気下高められた温度で攪拌する。次いでTLCに付する。溶媒を回転蒸発させそして物質をクロマトグラフィーで精製する。

化合物2のGd(III)キレート

化合物2 (0.4 g, 0.4mmol) の水中的溶液に、酸化ガドリニウムGd₂O₃ (0.1 g, 0.2mmol) を加えそして混合物を95°Cで加熱する。濾過後、溶液を蒸発させ、5°Cで減圧乾燥させる。

実施例 2

脈管形成のMR画像形成用造影剤

化合物3

リシン (0.1 g, 0.7mmol) を、乾燥DMF (N,N-ジメチルホルムアミド) 中のN-(4-オクチルフェニル)-3-(2-カルボキシエチル)-6,7-ジヒドロ-5H-チアゾロ[3,2-a]ピリミジン-2-カルボキサミド (0.3

g, 0.7mmol, EP-A-618208に従って製造された) よびDCC (N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド) の溶液に加える。反応混合物を周囲温度で攪拌し次いで TLCに付する。分散液を+4°Cで一晩放置する。分散液を濾過しそして溶媒を回転蒸発させた後、物質をクロマトグラフィーで精製する。

化合物4

ジエチレントリアミンペンタ酢酸二無水物 (17.9 g, 50mmol) を乾燥DMFに溶解し、そして乾燥DMFに溶解した化合物3 (0.3 g, 0.5mmol) を加える。

反応混合物を窒素雰囲気下高められた温度で攪拌する。次いでTLCに付する。溶媒を回転蒸発させそして物質をクロマトグラフィーで精製する。

化合物4のGd(III)キレート

化合物4 (0.4 g, 0.4mmol) の水中的溶液に、酸化ガドリニウムGd₂O₃ (0.1 g, 0.2mmol) を加えそして混合物を95°Cで加熱する。濾過後、溶液を蒸発させ、5°Cで減圧乾燥させる。

実施例 3

脈管形成検出用核医学用造影剤

化合物2の¹¹³Iキレート

実施例1からの化合物2 (1 mg) を、0.05N HClに溶解した0.1N NaOH・SnCl₂・2H₂O (100 μg) に溶解し、そして生理食塩水中のナトリウムバーテクネート

形態の10~100mCi ^{99m}Tcの溶液を加える。1分未満で0.5Mのリン酸塩緩衝液(pH 5)を加えて溶液のpHをpH 7~8に調整する。次いで、TLCに付しそして物質をクロマトグラフィーで精製する。

実施例 4

脈管形成検出用核医学用造影剤

化合物4の ^{99m}Tcキレート

実施例2からの化合物4 (1mg) を、0.05N HClに溶解した0.1N NaOH・SnCl₂・2H₂O(100μg)に溶解し、そして生理食塩水中のナトリウムバーテ

クネテート形態の10~100mCi ^{99m}Tcの溶液を加える。1分未満で0.5Mのリン酸塩緩衝液(pH 5)を加えて溶液のpHをpH 7~8に調整する。次いで、TLCに付しそして物質をクロマトグラフィーで精製する。

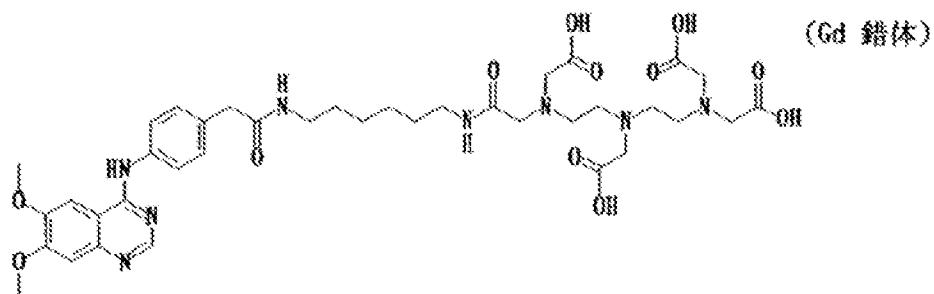
実施例 5

脈管形成検出用核医学用造影剤

^{99m}Tc (2当量) および過塩素酸ナトリウム(1当量)の水溶液を、N-[3S-ヒドロキシ-4-ヒドロキシアミノ]-2R-イソブチルスクシニル]-L-フェニルアラニン-¹-メチルアミド(1当量、W0.94/02446に従って製造した)の水溶液に加える。溶媒を回転蒸発させそして物質をクロマトグラフィーで精製する。

実施例 6

脈管形成検出用VEGF受容体を標的にするベクターを含むDTPAモノアミドガドリニウム錯体の製造



a) 6,7-ジメトキシ-3H-キナゾリン-4-オンの合成

2-アミノ-4,5-ジメトキシ安息香酸(0.9mg、0.005mmol)およびホルムアミド(5mL)の混合物を190°Cで6時間加熱した。混合物を80°Cまで冷却しそして水(25mL)に注いた。沈殿物を滤去し、水で洗浄しそして減圧乾燥させた。収量1.54g(15%)、褐色の粉末。その構造は¹H(500MHz)および¹³C NMR(125MHz)分析により確認された。

b) 4-クロロ-6,7-ジメトキシキナゾリンの合成

オキシ塩化リン(20mL)中の、a)からの化合物(1.03g、5.00mmol)の懸濁液を3時間還流した。暗色の溶液を濃縮しそして残渣を酢酸エチルに溶解させた。有機相を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄した後乾燥(Na₂SO₄)させた。溶液を短いシリカカラムを通して滤過し、濃縮して392mg(35%)の純白でない物質を得た。¹H NMR(300MHz)および¹³C NMR(75MHz)のスペクトルは構造に従っていた。

c) 〔4-(6,7-ジメトキシキナゾリン-4-イルアミノ)フェニル〕酢酸の合成

2-ブロバノール(8mL)中の、b)からの化合物(112mg、0.500mmol)および4-アミノフェニル酢酸(76mg、0.50mmol)の混合物を3時間還流させた。反応混合物を冷却しそして沈殿物を単離し、2-ブロバノールで洗浄し、減圧乾燥させた。収量183mg(97%)、淡黄色固体物質。構造を¹H NMR(500MHz)および¹³C NMR(125MHz)により確認した。MALDI質量分析(α-シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸マトリックス)を用いてさらに特徴化を行ったところ、(細)に対するm/zは341、期待値340であった。

d) 〔2-〔2-〔4-(6,7-ジメトキシキナゾリン-4-イルアミノ)フェニル〕アセチルアミノ〕ヘキシル〕カルバメートの合成

DME(2.0mL)中の、c)からの化合物(38mg、0.10mmol)およびN-Boc-1,6-ジアミノヘキサン塩酸塩(25mg、0.10mmol)の懸濁液に、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(34mL、0.20mmol)を加えた。澄明な溶液に、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N-エチルカルボジイミド塩酸塩(19mg、0.10mmol)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(15mg、0.10mmol)を加えた。反応混合物を室

温で一晩攪拌し次に炭酸ナトリウム(2.5g)および塩化ナトリウム(4.0g)を含む25mlの水に注いだ。有機物質をクロロホルム中へ抽出しそして有機相を水洗した後乾燥(Na_2SO_4)させた。溶液を濾過した後濃縮した。生成物をカラムクロマトグラフィー(シリカ、

クロロホルム/メタノール/酢酸85:10:5)で精製し、最後に酢酸から凍結乾燥した。収量54mg(90%)、黄白色の固体物質(アセテート)。生成物をMALDI質量分析(α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸マトリックス)で特性化したところ、 $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対する m/z は期待した通り539であった。 ^1H (500MHz)および ^{13}C (125MHz)NMR分光法を用いてさらに特性化を行った。

e) $\text{N}-(6\text{-アミノヘキシル})-(4-(6,7\text{-ジメトキシキナゾリン-4-イルアミノ)フェニル})\text{アセトアミド塩酸塩の合成}$

d) からの化合物(27mg、0.050mmol)をゆっくり加熱してジオキサン(3ml)に溶解させた。溶液に、ジオキサン(0.5ml)中の4N HClを加えた。反応混合物を一晩攪拌し、減圧乾燥して定量収率の標記化合物を得た。MALDI質量分析(α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸マトリックス)を用いて特性化を行ったところ、 $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対する m/z は期待した通り439であった。分析用HPLC(カラムVydac 218TP54、勾配12~24% B20分間、A=水/0.1%TFA、B=アセトニトリル/0.1%TFA、流速1.0ml/分)を用いてさらに特性化を行ったところ、340nmで検出された保持時間13.0分で一つの生成物ピークが得られた。また、NMR分光法によつて特性化を行ったところ、構造に一致する ^1H (500MHz)および ^{13}C (125MHz)スペクトルが得られた。

f) ガドリニウムキレート化用DTPAモノアミド誘導体(上記の構造)の合成

DMF(5ml)中の、e)からの化合物(0.05mmol)およびDTPA-無水物(179mg、0.500mmol)の懸濁液に、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(17 μl 、0.10mmol)を加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧濃縮した。HPLC分析(カラムVydac 218TP54、勾配16~28% B20分、A=水/0.1%TFA、B=アセトニトリル/0.1%TFA、流速1.0ml/分)により、LC-MS(ESI)によって示される7.9分で生成物のピークが得られ、これは標記の化合物($[\text{M}+\text{H}]^+$ に対する m/z 813、期待値

814) に相当する。生成物を調

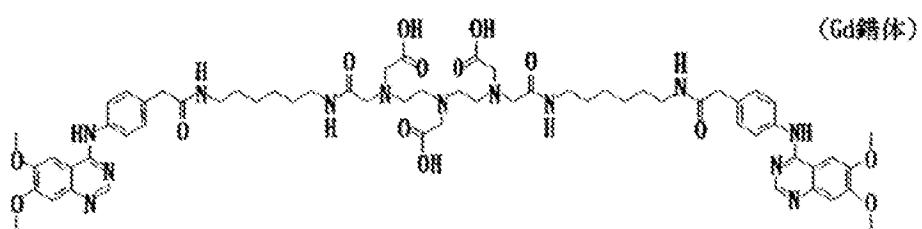
製用HPLC(カラムVydac 218TP1022、勾配16~28% B60分、A=水/0.1%TFA、B=アセトニトリル/0.1%TFA、流速10.0ml/分、254nmで検出)で精製したところ、6.7mgの精製物が得られた。精製物のHPLC分析により、保持時間のシフトは5.6分(上記の分析条件)であることが判明し、鉄錯体に対応するMALDI質量分析を行ったところ、錯体についてはm/zは870、遊離配位子については816が得られた。

g) f) からの化合物のガドリニウム錯体の製造

f) からの化合物(0.1mg)を三塩化ガドリニウムの水溶液(濃度2mg/ml、0.1ml)に溶解した。混合物を一晩攪拌した。ガドリニウム錯体への定量的転換は、MALDI質量分析(α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸マトリックス)により証明され、ガドリニウム錯体(それぞれ、ガドリニウム、ガドリニウム/ナトリウムおよびガドリニウム/ニナトリウム)についてはm/zピークは970、992および1014であり、そして遊離配位子/ナトリウム錯体に相当するm/zピークは816/838であった。鉄錯体の痕跡は検出できなかった。

実施例 7

脈管形成RIR検出用VEGF受容体を標的にするベクターを含むDTPAビスアミドガドリニウム錯体の製造



a) ガドリニウムキレート化用DTPAビスアミド誘導体(上記の構造)の合成

実施例6 f) における反応混合物の分析用HPLCは、上記のDTPAビスアミドに相当するLC-MS(EIS)によって示された16.8minでピークを与える、m

/zは期待した通り (M^+)⁺ では1233が得られ、そして ($\text{M}^+ \text{H}_2$)⁺⁺ では期待した通

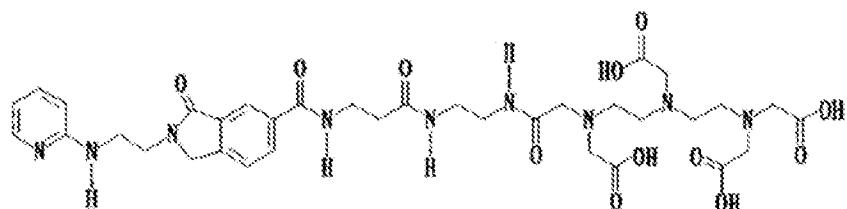
り616.6が得られた。生成物を調製用HPLC(実施例6 f)に記載した条件)で精製して凍結乾燥後に14mgの純粋な物質を得た。精製された物質を分析用HPLCで分析したところ、精製中の鉄錯体の生成に起因して保持時間のシフトが16.8分(粗混合物中)から11.1minになり、これはMALDI質量分析(α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸マトリックス)によって証明され、 m/z が鉄錯体では1291、遊離配位子では1237が得られた。

b) a) からの化合物のガドリニウム錯体の製造

a) からの化合物を実施例6 g) に記載したように三塩化ガドリニウムの水溶液で処理した。2時間の反応時間後、MALDI質量分析によりガドリニウム錯体への転換が示され、 m/z はガドリニウム錯体では1391、遊離配位子では1235であった。

実施例 8

カルボキシメチル-[2-(カルボキシメチル)-2-(カルボキシメチル)-[2-(3-(3-オキソ-2-(2-(ピリジン-2-イルアミノ)-エチル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-5-カルボニル)-アミノ)-プロピオニルアミノ]-エチルカルバモイル]-メチル)-アミノ]-エチル)-アミノ]-エチル)-アミノ]-酢酸(12)



12

a) 4-メチル-イソフタル酸(2)

窒素下、-78°C (ドライアイス/メタノール) まで冷却した3-ブロモ-4-メチル-安息香酸(5.0g, 23.25mmol)のTHF溶液(130ml)に、エーテル中の*Me*MgBr(3.0M, 8.5ml, 25.57mmol)を、温度が-75°Cを越えない

いような速度で加えた。次に、温度を-60°Cまで上昇させ、ガスの放出が止まった後、溶液を再び-78°Cまで冷却した。次に、温度が-75°Cを越えないようにへ

キサン中のBuLi (1.6M, 29.06ml, 46.50mmol) を滴加した。次に、混合物をこの温度で15分間攪拌した後粉碎ドライアイス(4.4g, 100mmol)を加えた。温度が周囲温度まで自由に上昇するように、沈殿物を激しく攪拌した。混合物を6N HClを用いて酸性にし、固体物質を濾取し、ジエチルエーテルで洗浄した後乾燥させた。水から再結晶させて純白でない純粋な化合物(81%)、融点296~298°C (昇華後)を得た。NMRは予想した構造と一致した。

b) 4-メチル-1-ソフタル酸メチルエステル (4)

化合物(2) (2.83g, 15.71mmol)、塩化チオニル (50ml) およびDMF (3滴) の混合物を2時間還流加熱させた。室温まで冷却した後、過剰の塩化チオニルを減圧下 (回転蒸発器) で除去した。得られた暗色の油状物を四塩化炭素 (30ml) に溶解し、ピリジン (1ml, 12.43mmol) とメタノール (20ml) で処理した後周囲温度で2時間攪拌した。溶剤を蒸発させた後残渣をフラッシュクロマトグラフィー:シリカ、ヘキサン/EtOAc (9:1) で精製した。

c) 4-プロモエチル-1-ソフタル酸ジメチルエステル (5)

四塩化炭素 (20ml) 中の(4) (0.96g, 4.61mmol)、過酸化ジベンゾイル (56mg, 0.23mmol) およびN-プロモコハク酸イミド (NBS) (0.82g, 4.61mmol) の混合物を20時間還流加熱させた。室温まで冷却し、濾過した後、溶剤を蒸発させて黄色の油状物を得た。フラッシュクロマトグラフィー:シリカ、ヘキサン/EtOAc (7:3) により純粋な化合物が得られた。

d) 3-オキソ-2-(2-(ピリジン-2-イルアミノ)-エチル)2,3-ジヒドロ-1H-インソインドール-5-カルボン酸メチルエステル (6)

トルエン (10ml) 中の(5) (511mg, 1.78mmol) の溶液を、Et₃N (744μl, 5.33mmol) およびN1-ビリジン-2-イル-エタン-1,2-ジアミン (244mg, 1.78mmol) (2-プロモビリジンを過剰のエチレンジアミンとビリジンで処理して製造) で処理し、混合物を6時間還流させた。室温まで冷却しそして溶剤を蒸発させた後、残渣をフラッシュクロマトグラフィー:シリカ、CH₂Cl₂/アセトン (3:2) で精製した。

e) 3-オキソ-2-(2-ビリジン-2-イルアミノ)-エチル)2,3-ジヒ

ドロ-1H-イソインドール-5-カルボン酸(7)

(6) (301mg, 0.97mmol)および1N NaOH (3ml)のメタノール溶液(6ml)を周囲温度で24時間攪拌させた。1M NaHSO₄溶液を用いて溶液を酸性にし、沈殿物を濾取し、水で十分に洗浄しそしてP₂O₅／ブルーゲルで24時間乾燥させた。

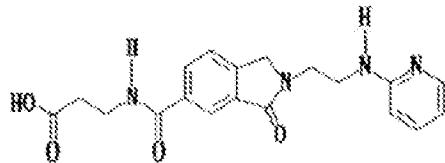
f) 3-(13-オキソ-2-(2-(ピリジン-2-イルアミノ)-エチル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-5-カルボニル)-アミノ)-プロピオン酸第3ブチルエステル(8)

(7) (166mg, 0.56mmol)、N-メチルモルホリン(185μl, 1.68mmol)、BOP (322mg, 0.73mmol) およびH-β-アラ-0tBu(152mg, 0.84mmol)の、DMF (5ml)中の溶液を周囲温度で20時間攪拌した。混合物を酢酸エチル (10ml)で希釈し、次にH₂O、NaHCO₃、10%KHSO₄および食塩水 (5ml)でそれぞれ一個洗浄した後乾燥(MgSO₄)、濃縮させた。フラッシュクロマトグラフィー(シリカ、EtOAc)によりエステル(8)が白色固体として得られた。

g) 3-(13-オキソ-2-(2-(ピリジン-2-イルアミノ)-エチル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-5-カルボニル)-アミノ)-プロピオン酸(9)

エステル(8)(252mg, 0.60mmol)、TFA (4ml)およびCH₂Cl₂ (8ml)の溶液を周囲温度で3時間攪拌した。混合物を蒸発乾固させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカ、EtOH／NH₄OH 19:1)で精製して(9)を

純白でない泡状物(フォーム)として得た。NMRは下記の構造に一致した。



h) [2-(3-(13-オキソ-2-(2-(ピリジン-2-イルアミノ)-エチル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-5-カルボニル)-アミノ)-エチル]-カルバミン酸第3ブチルエステル(10)

DMF (2ml)中の、酸(9) (20mg, 0.054mmol)の溶液に、N-メチルモルホリ

ン (3MM) (16.40mg, 0.162mmol)、BOP (カストロ試薬) (31.05mg, 0.078mmol) およびBOCで保護されたジアミン (13mg, 0.081mmol) を加え、混合物を周囲温度で20時間攪拌した。EtOAc (5ml) で希釈した後、溶液をH₂O、飽和NaHCO₃、10% KHSO₄ および食塩水でそれぞれ一回洗浄した。有機相を乾燥 (MgSO₄) させ、濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー(シリカ、1:1 CH₂Cl₂／アセトン)。MALDI-MS: 510.59。

i) 3-オキソ-2-[2-(ビリジン-2-イルアミノ)-エチル]-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-5-カルボン酸 [2-(2-アミノエチルカルバモイル)-エチル]-アミド (11)

(10) (20mg, 0.039mmol) およびTFA (2ml) のCH₂Cl₂ 溶液を周囲条件下で4時間乾燥した。反応混合物を濃縮し、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカ、19:1 CH₂Cl₂／アセトン) で精製して(4)を白色の固体として得た。MALDI-MS: 410.48。

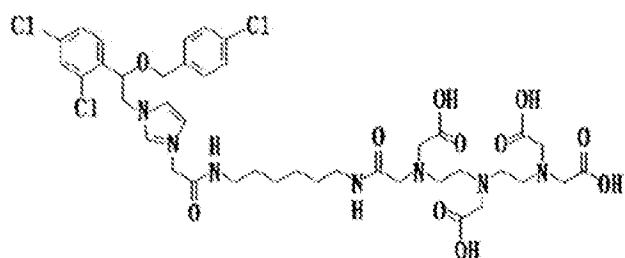
j) カルボキシメチル-[2-(カルボキシメチル)-(2-[カルボキシメチル]-[2-(3-(3-オキソ-2-[2-(ビリジン-2-イルアミノ)-エチル]-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-5-カルボニル)-アミノ)-エチルカルバモイル)-メチル]-アミノ]-エチル-アミノ)-エチルカルボ

イル)-メチル]-アミノ]-エチル-アミノ)-エチル]-アミノ)-酢酸 (12)

(11) (15mg, 0.36mmol)、N,N-ジイソプロピルアミン (17μl, 0, 10mmol) およびDTPA-無水物 (129mg, 0.36mmol) のDMF (12ml) 中の溶液を周囲温度で3時間攪拌し、減圧濃縮させた。残渣を調製用HPLC (アセトニトリル／水中の0.1%TFA) で精製した。

実施例 9

脈管形成の観察用bFGF受容体を標的にするベクターを含むDTPAモノアミドガドリニウム錯体の製造



a) {3-[2-(4-クロロ-ベンジルオキシ)-2-(2,4-ジクロロフェニル)-エチル]-3R-イミダゾール-1-イル}-酢酸第3ブチルエステルの合成

1-[2-(4-クロロ-ベンジルオキシ)-2-(2,4-ジクロロフェニル)-エチル]-1H-イミダゾール (1 g, 2.25mmol) およびプロモ酢酸第3ブチル (1 mL, 6.8mmol) を15mLのアセトニトリルに溶解し、一晩還流加熱した。TLCにより出発物質が完全に転換することが判明した。溶剤を冷却し、減圧蒸発させた後残留する油状物をクロロホルムに溶解し、エーテルで摩擦した。生成物をMALDI質量分析によって同定し、さらに精製しないで次の行程で用いた。

b) {3-[2-(4-クロロ-ベンジルオキシ)-2-(2,4-ジクロロフェニル)-エチル]-3R-イミダゾール-1-イル}-酢酸の合成

a) からの化合物 (500mg, 1 mmol) を2mLのジクロロメタンに溶解し、氷浴で冷却した。2mLのトリフルオロ酢酸を加え、氷浴を除きそして反応混合物を1時間攪拌した。TLCにより出発物質が完全に転換していることが判明した。溶剤を減圧除去し、生成物をさらに精製しないで次のステップで用いた。

c) (6-[2-(3-[2-(4-クロロ-ベンジルオキシ)-2-(2,4-ジクロロフェニル)-エチル]-3R-イミダゾール-1-イル)-アセチルアミノ]-ヘキシル)-カルバミン酸第3ブチルエステルの合成

b) からの生成物を実施例6 d) について述べた手順でc) に転換し、生成物をフラッシュクロマトグラフィーによって精製した。

d) N-(6-アミノ-ヘキシル)-2-[3-[2-(4-クロロ-ベンジルオキシ)-2-(2,4-ジクロロフェニル)-エチル]-3R-イミダゾール-1-イル]-アセトアミドの合成

c) からの生成物を実施例6 e) について述べた手順でd) に転換した。
生成物をさらに精製しないで用いた。

e) (((2-((2-(ビスカルボキシメチルアミノ)エチル)カルボキシメチルアミノ)エチル)-((6-(2-(3-(2-(4-クロロペンジルオキシ)-2-(2,4-ジクロロフェニル)エチル)-3H-イミダゾール-1-イル)アセチルアミノ)ヘキシルカルバモイル)メチル)アミノ)酢酸の合成

d) からの生成物を実施例6 f) について述べた手順でe) に転換した。
実施例6 f) で述べたようにして調製用HPLCによって精製を行った。

f) 化合物e) のガドリニウム錯体の製造は実施例6 g) で述べた手順で行った。

【國際調查報告】

REVISED
VERSION

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

1. International Application No.
PCT/GB 98/011972. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K49/00

According to international Patent Classification (IPC) and to each national classification and CPC

3. FIELDS SEARCHED

National classification (classification system followed by Patent Office of each State)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than international patent literature is not included in the international search report

Electronic data base searched during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

4. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category 1 Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages. Reference to document no.

P, X	CHEMICAL ABSTRACTS, Vol. 126, no. 26, 30 June 1997 Columbus, Ohio, US; abstract no. 340590. NITSCHKE, R. ET AL: "A modified confocal laser scanning microscope allows fast ultraviolet ratio imaging of intracellular Ca ²⁺ activity using Fura-2" XP002074474 588 6051PCT & PFLUEGERS ARCH. (1997), 433(5), 653-663 CODEN: PFLABK (ISSN: 0031-6768, 1997.	1-9
	~ / ~	1-9

 Further documents are cited in the continuation of box D. Parent family members are cited in section.

5. Special categories of cited documents

1A) document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

1B) earlier document not published on or after the international filing date

1C) document which may contain details of prior art elements or which is used to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

1D) document relating to an prior documents, uses, addition or other reason

1E) document published later than the international filing date but later than the priority date claimed

1F) later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but used to understand the principle or theory underlying the invention

1G) documents of particular relevance, the content of which cannot be appreciated until or cannot be appreciated in another document also when the document is taken alone

1H) documents of particular relevance, the content of which cannot be appreciated in itself or cannot be appreciated in the document in combination with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

1I) document member of the same cited family

Date of the next continuation/reduced search

Date of mailing of the international search report

13 August 1998

03/09/1998

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P. O. Box 8040 Patentbox 2
Tel: 089 30 345 2040, Fax: 089 30 345 2020
E-mail: EPO-ISA@epo.org

Authorized officer

Berts, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/GB 98/01197

C (Continued): DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category	Character of document, with substantial references, or the relevant passages Reference to claim No.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 121, no. 17, 24 October 1994 Columbus, Ohio, US; abstract no. 199869, CONDRAU, MARC A. ET AL: "Time-resolved flow cytometry for the measurement of lanthanide chelate fluorescence: II. Instrument design and experimental results" XP002074475 see abstract & CYTOMETRY (1994), 16(3), 195-205 CODEN: CYTODQ; ISSN: 0196-4763, 1994, ----- DE 195 22 774 A (IEU GMBH) 2 January 1997 see column 1, line 42 - line 52; claims see column 2, line 58 - line 67 ----- W0 96 23524 A (NYCOMED IMAGING AS (COOKBAIN JULIAN R M (GB); KLAVENESS JO (NO); F) 8 August 1996 see claims; examples -----
A	-----
Y	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

in International application No.
PCT/GB 98/01197

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. **Claims Not:**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Remark: Although claim(s) 12-13
is(are) directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. **Claims Not:**
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. **Claims Not:**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 5.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

The International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, the International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, the International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims No(s):
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims No(s):

Remarks on Patent

The additional search fees were accompanied by the applicant's patent.

No patent accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/GB 98/01197

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family members		Publication date
DE 19522774	A 02-01-1997	NONE		
WO 9623524	A 02-08-1996	AU BR CA EP NO	4545896 A 9607012 A 2212257 A 0808176 A 973542 A	21-08-1996 28-10-1997 08-08-1998 26-11-1997 01-10-1997

フロントページの続き

(61) 指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(CH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, E, E, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

(72) 発明者 ノーヴェスターード, アンネ
ノールウエー園エン-0485 オスロ, タム
ブルヴェイエン 133-
(72) 発明者 トレスハウグ, ヘルグ
ノールウエー園エン-0401 オスロ, トル
シヨヴ, ビー・オー・ボツクス4220, ニュ
コヴエイエン1-2, ニュコメド・イメー
ジング・アクシスセルカベト